Istituto di Patologia Speciale Medica e di Clinica Medica Propedeutica
della R. Università di Siena - diretto dal Prof. F. MICHELI

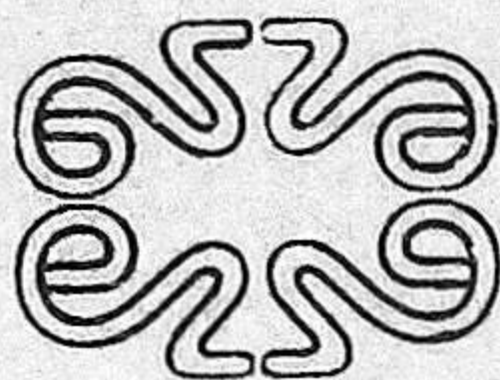
Ricerche cliniche, urologiche, sierologiche ed ematologiche nelle vaccinazioni preventive per via endovenosa

Dott. ARNALDO PIERI

MILANO
Tipografia Enrico Zerboni
Via Cappuccini, 18
1916

Istituto di Patologia Speciale Medica e di Clinica Medica Propedeutica
della R. Università di Siena - diretto dal Prof. F. MICHELI

Ricerche cliniche, urologiche, sierologiche ed ematologiche nelle vaccinazioni preventive per via endovenosa

Dott. ARNALDO PIERI

MILANO
Tipografia Enrico Zerboni
Via Cappuccini, 18
1916

Mentre si attende che un largo, paziente e rigoroso studio statistico valga a precisare gli effetti che le varie forme di vaccinazione preventiva — messe in opera così largamente in questi ultimi tempi — sono capaci di esplicare sulla morbidità e sulla mortalità delle rispettive infezioni, da varie parti si sono studiate le manifestazioni locali e generali, gli inconvenienti abituali o d'eccezione, le modificazioni sierologiche ed ematologiche, che seguono all'iniezione dei diversi vaccini e in special modo del vaccino antitifico.

E a nessuno può sfuggire l'importanza pratica e biologica, che si riattacca a queste ricerche. Esse, per altro, si riferiscono tutte o quasi tutte, per quanto io so, agli effetti delle vaccinazioni eseguite col procedimento di gran lunga più comune, quello della iniezione sottocutanea di vaccini in vario modo preparati e consistenti per lo più in autolizzati batterici o in sospensioni in soluzione fisiologica di batteri uccisi in vario modo o col calore (Pfeiffer e Kolle) o con l'etere (Vincent) o con l'acido fenico (Castellani). Difettano cioè le ricerche metodiche sulle varie manifestazioni indotte nell'organismo normale dalle vaccinazioni per via endovenosa.

La via endovenosa che è la via di gran lunga più usata, e con risultati indubbiamente superiori, nelle vaccinazioni sperimentali, ancora non ha trovato per verità gran seguito nella pratica delle vaccinazioni preventive, mentre di recente, specie in Austria-Ungheria, in Germania ed anche in Italia, è stata largamente usata per la introduzione di vaccini omologhi ed eterologhi nella cura del tifo. Diffidenze ingiustificate, preoccupazioni esagerate di pericoli che non esistono e di difficoltà tecniche che potrebbero essere vinte assai facilmente hanno impedito finora che le vaccinazioni endovenose trovassero quella vasta applicazione che esse meritano, dopo la brillante sanzione ricevuta dalle ricerche di laboratorio.

Tuttavia il metodo endovenoso — che dobbiamo, non sarà

inutile ricordarlo nell'ora triste della sua morte, a G. Baccelli — merita la più attenta considerazione anche nel campo delle vaccinazioni, come quello che offre sugli altri metodi seguiti fin qui degli indubbi vantaggi, i quali, riferendoci in special modo agli studi eseguiti da Moreschi e da Micheli sulle vaccinazioni endovenose contro il tifo e il colera, possono essere riassunti così:

a) maggiore costanza e maggiore regolarità di azione;

b) potere vaccinogeno più elevato, per quanto si può desumere dal dosaggio delle agglutinine e delle batteriolisine nel siero dei vaccinati;

c) possibilità di vaccinare con un'unica iniezione e quindi con notevole risparmio di tempo.

Mi è parso pertanto non privo d'interesse lo studiare, per consiglio del Prof. Micheli, in maniera più metodica e precisa, le manifestazioni immediate delle vaccinazioni endovenose, e precisamente: le manifestazioni cliniche, urologiche, ematologiche e sierologiche.

***

Queste osservazioni riguardano tre forme diverse di vaccinazioni, eseguite sempre per via endovenosa:

1. vaccinazione antitifica;
2. vaccinazione anticolerica;
3. vaccinazione mista e contemporanea, antitifica e anticolerica.

Furono eseguite su soggetti giovani e sani, per lo più convalescenti di lievi affezioni non febbrili o affetti da leggeri disturbi d'ordine funzionale.

Il vaccino adoperato è il così detto vaccino secco, preparato secondo il metodo generale di Loeffler.

Tentativi di vaccinazione endovenosa sono stati eseguiti qua e là con ottimi risultati da Nicolle, Conor e Conseil, da Mc. Williams (1), ecc. anche coi comuni vaccini rappresentati da sospensioni acquose di bacilli attenuati o uccisi in vario modo, ma senza dubbio il vaccino secco è apparso particolarmente adatto all'applicazione endovenosa, come quello che, oltre ad essere assai attivo, meglio degli altri risponde ad altre condizioni fondamentali, quali si richiedono ad un prodotto inoculabile nelle vene, di essere cioè esattamente dosabile e di conservare lungamente quasi indefinitamente inalterata la sua attività (Micheli).

Come è noto, il vaccino secco alla Loeffler consiste essenzialmente in un'ansa normale di patina batterica fresca, nel caso particolare di bacilli del tifo e del colera, essiccata lungamente

---

(1) Medical Record, 16 Ottobre 1915.

nel vuoto e su bagno ad acido solforico e poi inattivata per circa due ore a 100° - 120°.

La preventiva essiccazione impedisce che il successivo riscaldamento alteri la proprietà antigene delle proteine batteriche, che restano anzi, siccome l'esperienza insegna, mirabilmente conservate.

Al momento dell'uso, il vaccino secco viene emulsionato in soluzione fisiologica e con la medesima diluito fino alla diluizione opportuna. Questo tipo di vaccino alla Loeffler, sotto forma di vaccino antitifico, è stato adoperato per la prima volta nell'uomo, a scopo di vaccinazione endovenosa, da Friedberger e Moreschi (2) ed è poi stato studiato in vario modo da Moreschi e Bosisio (3), da Micheli (4), Sebastiani e Galassi (5), Cesa-Bianchi (6), onde è venuta in complesso la piena conferma delle conclusioni già formulate da Friedberger e Moreschi, che cioè dosi piccolissime di vaccino, oscillanti intorno a 1/1000 di ansa normale, inoculate nell'uomo per via endovenosa, rappresentano quantitativamente pressochè l'optimum dell'antigine necessario, alla produzione di agglutinine e di batteriolisine (metodo di Pfeiffer).

Sotto forma di vaccino anticolerico lo stesso vaccino è stato applicato nell'uomo da Micheli e Quarelli (7) e, nello stesso tempo e indipendentemente, da Moreschi e Marcora (8), con risultati concordi, affermanti cioè che un'unica iniezione endovenosa di vaccino anticolerico secco, ad una dose optimum, che è stata fissata da Micheli e Quarelli attorno a 1/15-1/10 di ansa, è capace di determinare una più intensa produzione di anticorpi (agglutinine, batteriolisine) di quel che non facciano le iniezioni sottocutanee, anche ripetute, di dosi assai superiori di vibrioni colerici.

L'introduzione contemporanea nelle vene di vaccino antitifico e di vaccino anticolerico è stata praticata infine nell'organismo umano da Micheli e Quarelli (9), i quali autori hanno dimostrato che con questo metodo si ottiene una vivace produzione di anticorpi (agglutinine e batteriolisine) per entrambe le specie batteriche inoculate, in misura spesso corrispondente a quella determinata dalle vaccinazioni semplici.

---

(2) Deut. med. Woch., n. 49, 1906.

(3) Policlinico, M., n. 11, 1913.

(4) Atti della R. Accademia dei Fisiocritici di Siena, 1915.

(5) Archivio di Farmacologia Sperimentale, vol. 19, 1915.

(6) Pensiero Medico, n. 40, 1915.

(7) Pensiero Medico, n. 39, 1915.

(8) Pensiero Medico, n. 40, 1915.

(9) Pensiero Medico, n. 45, 1915 e Archivio per le Scienze Mediche, 1916.

In rapporto a questi tre ordini di vaccinazioni endovenose, io ho seguito, come ho detto, in vari casi il complesso delle manifestazioni cliniche, urologiche, ematologiche e sierologiche presentate dai vaccinati e ne espongo qui sommariamente, valendomi anche dell'abbondante materiale già raccolto dal Prof. Micheli, le principali risultanze.

Manifestazioni cliniche. — All'introduzione endovenosa, sia di vaccino antitifico, sia di vaccino anticolerico, sia di vaccino misto antitifico ed anticolerico, segue, come è noto, una serie di manifestazioni morbose, rapidamente transitorie, che corrispondono presso a poco, pur presentando spesso un'intensità alquanto maggiore, alle ben conosciute manifestazioni generali che si osservano nella pratica delle comuni vaccinazioni sottocutanee. Per quanto individualmente variabili come grado, queste manifestazioni, la cui nota obiettiva più saliente è rappresentata dalla reazione febbrile, costituiscono nelle vaccinazioni endovenose un fenomeno pressochè constante. E' merito di Friedberger e Moreschi di aver stabilito, a proposito del vaccino antitifico, che l'azione antigena non si può scindere dall'azione tossico-pirogena, perchè la quantità minima di vaccino necessaria alla produzione di un massimo di anticorpi corrisponde assai da vicino alla dose minima pirogena. Il fenomeno, biologicamente interessante e pienamente confermato da Moreschi, Bosisio, Micheli e Sebastiani, si ripete, come dimostrano le ricerche di Micheli e Quarelli, pel vaccino anticolerico e costituisce un'altra prova del principo, ormai e in vario modo ben stabilito, che il principio tossico e vaccinogeno dei corpi batterici (tifo e colera) sono legati ad un'unica e identica sostanza. Le dosi di vaccino, cui si riferiscono le osservazioni, che io sto per esporre, corrispondono in generale a 1/1000 di ansa n. pel vaccino antitifico e a 1/15-1/10 di ansa pel vaccino anticolerico.

In seguito adunque all'introduzione endovenosa di queste dosi, si stabiliscono delle manifestazioni morbose, che sono dominate dalla febbre e alla febbre sono generalmente proporzionali.

Per il tifo, come già risulta dalle osservazioni e dalle curve termiche di Moreschi, Bosisio, Sebastiani, Micheli e Quarelli, la reazione febbrile comincia abitualmente dopo un periodo di latenza assai lungo (4-6 e persino 12 ore), durante il quale la temperatura (rettale) non subisce variazioni o variazioni minime, inferiori a 37°5; quindi la temperatura sale più o meno rapidamente, ma di solito scalarmente, fino a raggiungere un massimo che è vario da individuo a individuo, ma che per lo più si aggira intorno a 39°, per poi discendere con diversa prontezza fino alla norma.

In complesso l'accesso febbrile raramente oltrepassa le 24 ore, e sempre in III giornata dall'iniezione la temperatura si presenta e si mantiene in limiti fisiologici, non avendo mai riscontrato, fra le moltissime osservazioni raccolte, rialzi termici protratti o a ripresa, come talvolta si osservano e sono stati descritti in seguito alle iniezioni sottocutanee.

Generalmente più lieve e meno protratto è l'accesso febbrile che segue alla inoculazione endovenosa della dose optimum di vaccino anticolerico. Il massimo della temperatura non supera difatti, d'ordinario, un massimo di 38°5-38°6 e la reazione termica eccezionalmente oltrepassa le 12 ore; talvolta anzi si esaurisce prima. Anche il periodo di latenza è quasi costantemente più corto, nel senso che il rialzo termico si inizia a breve distanza, di rado oltre le 2-3 ore, dall'iniezione e in brevissimo tempo raggiunge il suo acme. Resta da stabilire se ciò è in rapporto con la ben nota maggiore facilità di scissione dei corpi batterici del colera.

In modo assai strano e interessante ci si presentano le reazioni termiche e le altre manifestazioni morbose, in seguito all'inoculazione endovenosa contemporanea dei due vaccini. Era razionale pensare che l'azione tossico-pirogena, che s'accompagna costantemente alla iniezione dei singoli vaccini, si sommasse nell'organismo con effetto di manifestazioni tossico-pirogene assai intense; ma in verità, le osservazioni di Micheli e Quarelli e le nostre hanno dimostrato concordemente che in seguito alla iniezione mista la reazione febbrile non solo non è superiore a quella determinata dalle iniezioni semplici, ma quasi generalmente assai inferiore, come grado e durata, e talvolta pressochè nulla. Le curve riportate da Micheli e Quarelli nel loro ultimo lavoro illustrano assai efficacemente queste varie modalità di reazione.

L'interpretazione di questa forma di reazione paradossa si presenta assai difficile ed io mi rimetto a quanto ne hanno detto in proposito gli autori sopracitati.

Le modificazioni della frequenza del polso e del respiro corrispondono più o meno proporzionalmente all'altezza della temperatura. In seguito alle vaccinazioni antitifiche peraltro, si osserva per lo più un relativamente scarso aumento del polso e qualche volta una vera bradicardia.

Le altre manifestazioni morbose, coordinate alla reazione termica, sono d'ordinario proporzionate al grado della febbre, sia nelle vaccinazioni antitifiche, sia in quelle anticoleriche e miste. In tutti i casi, quando la reazione febbrile riesce di qualche entità, il brivido o la sensazione di brivido si manifesta contemporaneamente al rialzo termico e qualche volta prima che il ter-

mometro riesca a svelare un apprezzabile aumento di temperatura; queste sensazioni perdurano di solito o si ripetono nel corso della reazione.

In alcuni casi, non quindi in maniera costante, la temperatura cade con sudori più o meno copiosi.

Fra i fenomeni subiettivi, la cefalea è uno dei più costanti e insistenti, specie nei soggetti inoculati con vaccino antitifico. Essa insorge di solito a distanza di 3-4 ore dall'iniezione, precedendo quasi sempre l'insorgenza della reazione febbrile; è descritta come gravativa, molesta, per lo più localizzata alla regione frontale; qualche volta diffusa.

Assieme alla cefalea, prescindendo da alcune manifestazioni proprie soltanto di soggetti nevropatici (senso di soffocazione, agitazione, dispnea, nausee), i pazienti accusano un senso di malessere generale, accompagnato per lo più da dolori vaghi e diffusi a tutto il corpo; talvolta localizzati in corrispondenza degli arti inferiori, come un senso di troncatura o di indolenzimento articolare.

Non è raro ad osservarsi un risveglio di manifestazioni dolorose preesistenti (gastralgie, emicranie, artralgie, nevralgie varie, ecc).

Da parte del tubo digestivo, abitualmente nessun disturbo, all'infuori di una sensazione di nausea e di disappetenza.

Assai somigliante è il quadro fenomenologico, offerto dai vaccinati contro il colera, per quanto ordinariamente meno accentuato e di minor durata in rapporto con la minore durata e intensità della reazione termica.

Anche qui la cefalea è il primo e il più costante tra i sintomi accusati dai pazienti.

Interessante il fatto che in alcuni di questi soggetti, e anche tra quelli trattati con vaccino misto, si è avuto talvolta, nel periodo della reazione febbrile, diarrea, accompagnata da dolori al basso ventre, ciò che è pressochè costante se si oltrepassano le dosi abituali.

Fra le manifestazioni obbiettive, io non farò menzione che di un certo grado di ingrossamento della milza, nettamente rilevabile alla percussione e alla palpazione coi caratteri della milza tifosa, da noi osservato in un certo numero di casi (circa 1/3) fra i vaccinati con vaccino antitifico e altresì, assai più raramente, in alcuni vaccinati contro il colera.

Il reperto, già notato, sebbene assai più di rado, in seguito alle comuni vaccinazioni antitifiche sottocutanee (cfr. Hirsch (10), Goldscheider e Kroner (11), è già evidente a distanza di

(10) Berl. klin. Woch., n. 30, 1915.

(11) Berl. kl. Woch., n. 36-38, 1915, e Deut., med. Woch., n. 40, 1915.

12-24 ore dalla iniezione e persiste abitualmente per qualche giorno, nei nostri casi 7-10 giorni.

Tutte queste manifestazioni, all'infuori della lieve splenomegalia, sono rapidamente transitorie, senza strascico di disturbi di sorta, per modo che costantemente i nostri pazienti accusavano, dopo 24-36 ore dall'iniezione, senso di completo benessere.

Manifestazioni urologiche. — Nulla di particolarmente importante ha rilevato l'esame delle orine, praticato metodicamente in parecchi casi prima e a brevi intervalli dopo la vaccinazione. Le orine emesse durante e poco tempo dopo la reazione termica, presentano più o meno nettamente i caratteri delle orine febbrili.

In qualche caso, sia nei vaccinati contro il tifo, sia nei vaccinati contro il tifo e il colera, eccezionalmente nei vacinati contro il colera, mi fu dato di osservare delle lievi tracce di albumina, comparse ordinariamente a distanza di otto-dodici ore dalla iniezione e prontamente transitorie. In qualche vaccinato contro il colera aumento dell'indacanuria. In nessun caso, nemmeno negli individui inoculati con vaccino antitifico, è apparsa sicuramente positiva la diazoreazione di Ehrlich o quella dell'urocromogeno di Moritz e Weisz, che nel tifo naturale, come è noto, corrisponde nei suoi risultati alla diazoreazione.

Per quanto qualche raro autore, ad es. il Mühler (11 bis) abbia riferito che la prova di Weisz è positiva nella maggior parte dei vaccinati contro il tifo (vaccinazioni sottocutanee), la grande maggioranza di coloro che si sono occupati di questa ricerca (cfr. Hagge e Korff-Petersen (12)) nei riguardi delle comuni vaccinazioni sottocutanee hanno raccolto, come noi, risultati negativi, sia colla prova di Ehrlich, sia con quella di Moritz e Weisz, salvo in casi eccezionalissimi (Matko, 13).

Modificazioni ematologiche. — Le indicazioni delle letteratura in proposito si riferiscono quasi esclusivamente alle vaccinazioni antitifiche e si intende alle vaccinazioni praticate col metodo sottocutaneo. Esse non sono sempre molto concordi.

In una parte dei vaccinati, quasi tutti quelli che hanno presentato una reazione nulla o lieve, calcolati a circa 1/5 da Stieve (14) — che indubbiamente ha eseguito le ricerche ematologiche più metodiche e complete — non si osserva alcuna alterazione del quadro sanguigno.

Ma nella maggior parte, come si può desumere dalle ricerche

(11-bis) Münch. med. Woch., p. 435, 1915.

(12) Deut. med. Woch., n. 45, 1915.

(13) Wien., med. Woch., n. 34-35, 1915.

(14) D. Arch. f. klin. Med., Bd. 117, H 3-4, 1915.

di Ronchetti (15), Lipp (16), Schneider (17), Stieve (18), Römer (19), Ziersch (20), Hagge e Korff-Petersen (21), si stabiliscono delle modificazioni essenzialmente a carico del numero e dei rapporti percentuali dei leucociti, la cui nota più saliente è rappresentata da una più o meno evidente leucopenia, in modo un po' diverso descritta dagli autori nei riguardi della sua comparsa, della sua costituzione e durata.

Secondo Stieve (ed anche Römer, Lipp, ecc.), la leucopenia — abitualmente di grado assai moderato — sarebbe preceduta da una lieve leucocitosi (8000-10000) con aumento relativo ed assoluto dei polinucleari neutrofili.

In III giornata questa polinucleosi sarebbe ordinariamente scomparsa ed il quadro leucocitario apparirebbe di nuovo normale. A partire dal IV giorno s'inizierebbe un lieve aumento — in cifre assolute — dei linfociti che procederebbe in seguito parallelo alla diminuzione dei neutrofili, per raggiungere il suo massimo in VI-VII giornata e di poi scomparire lentamente in modo da aversi in XII-XVI giornata una cifra di linfociti corrispondente ai valori originari. I neutrofili diminuirebbero pian piano fino alla VI-VIII giornata, per poi crescere di nuovo a poco a poco, cosicchè, non praticando una seconda iniezione, il loro numero tornerebbe a corrispondere alle cifre primitive tra la X e la XII giornata, in un periodo cioè in cui i linfociti sarebbero ancora lievemente aumentati.

In generale, la diminuzione massima del numero complessivo dei leucociti cadrebbe fra la VI e la VIII giornata (Stieve), al momento cioè della massima linfocitosi.

Se non interviene la seconda vaccinazione, il quadro ematologico sarebbe nuovamente normale, quantitativamente e qualitativamente, in XII-XVI giornata. In seguito alla seconda e all' terza iniezione di vaccino si ripeterebbero le stesse modificazioni, per quanto in misura varia, secondo gli autori (Lipp, Stieve, Hagge e Korff-Petersen).

Secondo Stieve ed Hagge e Korff-Petersen, 8-10 giorni dopo la terza iniezione il quadro leucocitario, nella grande maggioranza dei vaccinati, sarebbe di nuovo assai vicino alla norma e solo in un decimo circa di essi, secondo Stieve, sarebbero rilevabili ancora a distanza di 2-3-4 settimane, delle più o meno chiare modifica-

---

(15) Pensiero Medico, 14 Dic., 1914.
(16) Münch. med. Woch., n. 16, 1915.
(17) Deut. med Woch., n. 14, 1915.
(18) loc. cit.
(19) Beitr. zur Klin. d. Infekt. Krankheiten, 1915.
(20) Münch. med. Woch., n. 39, 1915.
(21) loc. cit.

zioni, caratterizzate per lo più da un certo aumento relativo ed assoluto dei linfociti, oscillando la cifra globale dei leucociti in limiti fisiologici.

Non ha trovato adunque conferma la lunga persistenza della leucopenia, dallo Schneider rilevata in alcuni casi dopo la terza iniezione. Anche l'assoluta anaeosinofilia dallo stesso autore descritta nei vaccinati non trova riscontro nelle osservazioni di altri autori. I polinucleari eosinofili, secondo i più, subirebbero a partire dalla II giornata una più o meno evidente diminuzione per poi tornare a cifre normali o alquanto superiori alla norma a varia distanza dalla vaccinazione (Lipp, Stieve, Hagge e Korff-Petersen.

Nessuna variazione costante nei riguardi dei grossi mononucleari e della Mastzellen.

***

Di un particolare interesse si presentava lo studio delle modificazioni ematologiche che seguono alle vaccinazioni endovenose, perchè presumibilmente più nette e più costanti nei loro risultati e sopratutto perchè non turbate dalla reazione infiammatoria locale, che certo non è senza influenza sulle reazioni sanguigne delle comuni vaccinazioni sottocutanee.

III.

Attorno alle reazioni leucocitarie determinate dall'iniezione endovenosa di vaccino antitifico esistono già alcune indicazioni fornite da Bosisio e da Sebastiani e Galassi, per quanto limitate ad un breve periodo dopo l'iniezione. Secondo Bosisio, seguirebbe all'iniezione endovenosa di 1/1000 di ansa normale di vaccino antitifico Loeffler un aumento del numero dei globuli bianchi che si inizierebbe dopo quattro o sei ore, mentre la temperatura s'innalza. Raggiunto un massimo, diminuirebbe sino ad aversi dopo 14 o 16 ore una vera leucopenia, che continuerebbe per due o tre giorni.

I polinucleati neutrofili aumenterebbero durante la leucocitosi in maniera assoluta e relativa; e la percentuale rimarrebbe pure alta, anche quando si è manifestata la leucopenia; dopo 2-3 giorni ritornerebbe alla norma.

Secondo Sebastiani e Galassi, sarebbe costante nei soggetti normali una reazione leucocitaria individualmente assai variabile, come intensità, e consistente in una leucocitosi con polinucleosi neutrofila, raramente preceduta da un periodo rapidamente transitorio di leucopenia. L'aumento dei leucociti si stabilirebbe già a poche ore di distanza dalla iniezione, precedendo geneneralmente la reazione termica; perdurerebbe con oscillazioni varie per circa 12-16 ore, per poi diminuire e dar luogo talvolta, già in seconda giornata dalla vaccinazione, a un certo grado di leucopenia.

Le mie ricerche si riferiscono a parecchi soggetti vaccinati

in questa Clinica, nei quali l'esame del sangue fu praticato al mattino a digiuno, a brevi intervalli e per lungo tempo dopo l'iniezione, allo scopo di stabilire non solo le modificazioni immediate, ma anche lontane. Poteva essere interessante difatti l'accertare se e in qual senso e per quanto tempo il criterio del comportamento ematologico — criterio d'indubbio valore per la diagnosi di tifo — venga o meno a perdere d'importanza nei vaccinati.

Le mie osservazioni confermano anzitutto il dato della leucocitosi che segue a breve distanza alla vaccinazione, per essere sostituita in seconda e sopratutto in terza giornata da un grado evidente di leucopenia.

Il periodo di leucocitosi è contrassegnato dall'aumeuto relativo ed assoluto dei polinucleari neutrofili.

La leucopenia segue a breve distanza, come dicevo, alla leucocitosi ed è quasi sempre già rilevabile al principio della seconda giornata per raggiungere i suoi massimi valori in terza giornata. In questo momento la leucopenia s' aggira d' ordinario fra i 3000 e 4000 leucociti, risultando quindi assai più netta di quel che non è di solito la leucopenia più tardiva delle vaccinazioni sottocutanee.

Essa perdura solo per qualche giorno (5-6), pur regredendo lentamente a partire dalla quarta giornata, cosicchè in settima o poco dopo la settima giornata il numero dei leucociti oscilla abitualmente in confini fisiologici.

Come appare dalle tabelle I e II, durante il primo periodo di leucopenia, la cifra assoluta dei polinucleari neutrofili è diminuita, ma il loro rapporto percentuale si conserva ancora in aumento o assai vicino a quello primitivo e, corrispondentemente, i linfociti piccoli e medi presentano valori relativi e soprattutto assoluti inferiori agli originari.

TABELLA I.

P. Adamo, di anni 39: iniez. endovenosa di 1/1000 di ansa normale di vaccino antitifico.

Periodo d'esame	Leucociti	Pol. neutrofili		Pol eosinofili		Mastzellen		Linfociti		Monociti	
		0/0	mm3	0/0	mm3	0/0	mm3	0/0	mm3	0/0	mm3
Prima della vaccin	5200	56	3912	2	104	1	52	33	1716	8	416
5 ore dopo	7800	71	5538	—	—	—	—	21	1638	8	624
II. giornata	4560	70	3192	0.5	22	1.5	68	23	1048	6	182
III. »	3840	58	2227	2.5	96	1.5	57	30	1152	8	307
V. »	4480	59 5	2621	1.5	67	1.5	67	35.5	1590	3	134
VII. »	5280	60.5	3194	3	158	1.5	79	29	1531	6	314
IX. »	6480	52	3369	1	64	2	129	40	2592	5	324
XIV. »	6560	56.5	3706	1.5	98	—	—	39	2558	3	196

TABELLA II.

B. PRINETTA, di anni 17: iniez. endovenosa di 1/1000 di ansa normale di vacc. antitifico.

Periodo d'esame	Leucociti	Pol. neutrofili		Pol. eosinofili		Mastzellen		Linfociti		Monociti	
		0/0	mm3	0/0	mm3	0/0	mm3	0/0	mm3	0/0	mm3
Prima della vaccin.	6800	51	3468	1.5	102	0.5	34	44	2972	3	204
6 ore dopo	8400	66.5	5586	1	84	—	—	27.5	2310	5	420
II. giornata	4600	67.5	3105	0.5	23	—	—	27	1242	5	230
III. »	3200	50.5	1616	3.5	112	0.5	16	41	1312	4.5	144
IV. »	5040	53	2671	4	201	0.5	25	38	1915	4.5	226
VI. »	4080	49.5	2019	4	163	1	40	42	1713	3.5	42
VIII. »	5800	48.5	2813	3	174	0.5	29	45	2610	3	174
XII. »	6620	42	2780	2	132	—	—	53	3508	3	198

Alquanto più tardi — e d'ordinario prima ancora che la leucopenia sia scomparsa — i rapporti s'invertono e si stabilisce, a spese dei neutrofili, un aumento relativo e di poi anche assoluto dei linfociti, che raggiunge abitualmente il suo massimo alla scomparsa della leucopenia, tra la settima e quattordicesima giornata.

TABELLA III.

M. FERNANDA, di anni 26: iniez. endovenosa di 1/1000 di ansa normale di vacc. antitifico.

Periodo d'esame	Leucociti	Pol. neutrofili		Pol. eosinofili		Mastzellen		Linfociti		Monociti	
		0/0	mm3	0/0	mm3	0/0	mm3	0/0	mm3	0/0	mm3
Prima della vaccin.	5840	59	3450	2	116	—	—	37	2173	2	116
II. giornata	3360	54.5	1833	0.5	16	—	—	38	1276	7	235
VII. »	6680	34	2337	3	206	—	—	53	3646	10	688

TABELLA IV.

P. ITALIA, di anni 27: iniez. endovenosa di 1/1000 di ansa normale di vacc. antitifico.

Periodo d'esame	Leucociti	Pol. neutrofili		Pol. eosinofili		Mastzellen		Linfociti		Monociti	
		0/0	mm3	0/0	mm3	0/0	mm3	0/0	mm3	0/0	mm3
Prima della vaccin.	6840	60	4104	1	68	—	—	33	2257	6	410
II. giornata	4250	63	2677	—	—	—	—	33	1402	4	170
VII. »	5800	50	2900	2	116	—	—	42	2436	6	348
XIV. »	7200	49	3528	2	144	—	—	44	3 68	5	360
XXI. »	7000	56	3920	1	70	—	—	41	2870	2	140
XXX. »	6580	65	4277	1	70	—	—	28	1832	6	394

Questa linfocitosi relativa ed assoluta costituisce, come la leucopenia post-vaccinale, un fenomeno costante, per quanto va-

riabile come intensità nei vari casi e può raggiungere, come appare dalla tabella III, dei gradi assai elevati, persistendo per un tempo d'ordinario assai lungo, che in qualche caso, come risulta dalla tabella IV, può oltrepassare la ventunesima giornata.

Le variazioni a carico dei grossi mononucleati e delle Mastzellen non offrono alcunchè di caratteristico.

Quanto ai polinucleari eosinofili, è costante la loro transitoria diminuizione o scomparsa in rapporto colla leucocitosi che segue alla vaccinazione e durante la prima giornata di leucopenia, ma già a partire dalla terza giornata le cifre assolute e relative di questi elementi tornano ad esser uguali od anche lievemente superiori alle primitive.

Dopo la terza settimana dalla vaccinazione, i rapporti leucocitari sono tornati in tutti i nostri casi quantitativamente e qualitativamente normali.

Nessuna modificazione degna di nota è stata osservata in alcun caso a carico dell'emometria e del numero e della qualità de globuli rossi.

In complesso adunque, nelle vaccinazioni endovenose contro il tifo si ripetono con maggior prontezza ed evidenza le variazioni del numero e dei rapporti leucocitari osservati nelle vaccinazioni sottocutanee, variazioni che riproducono assai da vicino, per quanto a periodi assai più raccorciati, le caratteristiche fasi del quadro ematologico del tifo naturale, non esclusa nemmeno la linfocitosi tardiva che, com'è notissimo, può persistere in quest'affezione anche a distanza di 2 o 3 mesi dalla convalescenza.

Assai meno interessanti sono le modificazioni ematologiche che seguono all'iniezione di vaccino anticolerico.

Esse consistono essenzialmente in una leucocitosi con polinucleosi neutrofila, che si inizia a breve distanza dell'iniezione, raggiungendo gradi variabili (fra i nostri casi la cifra massima ha raggiunto i 15000 da un valore originario di 6000).

L'aumento dei leucociti, come appare dalla tabella V, è ancora manifesto in II giornata e permane, attenuandosi, per qualche giorno, per modo che prima della VII giornata il quadro ematologico è tornato quasi sempre normale.

Nel primo periodo di leucocitosi, il rapporto percentuale fra neutrofili e linfociti è profondamente alterato a spese di questi ultimi, ma in prosieguo, e spesso già in II giornata (tabella VI), i valori relativi di queste 2 categorie di elementi tornano ad essere assai vicini agli originari, cosicchè la persistente lieve leucocitosi si traduce in un aumento assoluto sia dei polinucleari, sia dei linfociti.

TABELLA V.

M. Violante, di anni 40: iniezione endovenosa di 1/15 di ansa normale di vaccino anticolerico.

Periodo di esame	Leucociti
Prima della vaccinazione	4880
6 ore dopo	9400
II giornata	7360
III giornata	6480
IV giornata	5760
V giornata	5680
VI giornata	5200

TABELLA VI.

T. Leonilde, di anni 18: iniez. endovenosa di 1/10 di ansa normale di vaccino anticolerico.

Periodo d'esame	Leucociti	Pol. neutrofili		Pol. eosinofili		Mastzellen		Linfociti		Monociti	
		0/0	mm3	0/0	mm3	0/0	mm3	0/0	mm3	0/0	mm3
Prima della vaccin.	4480	62	2777	2.5	112	—	—	30.5	1366	5	224
8 ore dopo	10080	86.5	8719	—	—	—	—	10.5	058	3	302
II. giornata	5840	58.5	3416	6.5	379	0.5	29	24.5	430	10	379
III. »	5280	58	3062	3.5	185	1	52	29	1531	8.5	448
IV. »	4720	64	2920	1	47	—	—	29	1368	6	283
V. »	4500	64	2880	2	90	0.5	0.5	29.5	1217	6	270

I polinucleari eosinofili in tutti i casi hanno presentato una diminuzione rapidamente transitoria in coincidenza col primo periodo della leucocitosi postvaccinale, diminuzione seguita pressochè costantemente, già in II giornata, da un aumento assoluto e relativo di vario grado.

Caratteri incostanti e poco decisi hanno offerto le modificazioni del numero e del quadro leucocitario nei vaccinati con vaccino misto. Alla stregua dei protocolli raccolti, che omettiamo per brevità, si può dire che tende in complesso a prevalere l'azione del vaccino antitifico, per modo che dopo l'iniziale e transitoria leucocitosi, la cifra dei leucociti torna in II e III giornata a valori vicini alla norma o più spesso leggermente subnormali e, più tardivamente, mentre il numero dei leucociti oscilla in limiti fisiologici, è constatabile una più o meno spiccata linfocitosi relativa ed assoluta.

Modificazioni sierologiche. — Dalle ricerche degli autori precedenti (Moreschi, Micheli e Quarelli, ecc.) risulta con molta evidenza, come ho già osservato, che un'unica iniezione endovenosa di vaccino antitifico o anticolerico è seguita da una vivace produzione di agglutinine e di batteriolisine, il cui titolo, determinato

in IX-X giornata, per quanto individualmente variabile, supera spesso quello che è possibile raggiungere con due o tre iniezioni sottocutanee di dosi notevolmente superiori di bacilli tifici o di vibrioni colerigeni. Meno evidente è la produzione di anticorpi di Bordet-Gengou, per lo meno, come per i primi hanno stabilito Sebastiani e Galassi, entro 9-10 giorni dall'iniezione; più tardi anche la presenza di questi anticorpi è rilevabile, per quanto sempre in misura assai scarsa (pel tifo). Anche la vaccinazione mista e contemporanea (tifo e colera) determina, come Micheli e Quarelli hanno dimostrato, un'attiva produzione di agglutinine e batteriolisine per le due specie batteriche, in misura spesso equivalente a quella delle vacinazioni semplici.

Le mie ricerche personali, più che alla conferma di questi fatti, ormai bene stabiliti, si sono volte a precisare, nei pochi casi che ho potuto seguire per qualche tempo, il modo di comportarsi della curva degli anticorpi, determinando a vari periodi di intervallo dall'unica iniezione endovenosa di vaccino antitifico o anticolerico o contemporaneamente antitifico e anticolerico il titolo agglutinante del siero di fronte alle rispettive specie batteriche.

Dato il non sempre costante parallelismo fra agglutinine e batteriolisine ed altri anticorpi, cui è più verosimilmente legata l'azione protettiva delle vaccinazioni, s'intende che la curva delle agglutinine non può senz'altro identificarsi con la curva degli anticorpi in genere e che essa non esprime per conseguenza che in maniera indiretta e relativa il modo di svolgersi delle complesse reazioni immunitarie nell'organismo vaccinato.

All'infuori del campo sperimentale, non esistono o quasi, per quanto io so, osservazioni metodiche in questo senso. Nel campo delle comuni vaccinazioni antitifiche (sottocutanee), innumerevoli ricerche sono state compiute, è vero, sul potere agglutinante del siero dei vaccinati; ma è assai difficile derivarne qualche conclusione positiva sull'evoluzione di questi anticorpi, perchè assai difficilmente comparabili, riferendosi esse ad individui trattati in vario modo, con diversi vaccini e diverso numero di iniezioni e a determinazioni eseguite a periodi troppo varii di distanza e con modalità tecniche svariate.

Alcune poche osservazioni metodiche di Ziersch (l. c.) parrebbero dimostrare che, in seguito al comune processo di vaccinazione antitifica, che consta di tre iniezioni sottocutanee a sette giorni di intervallo, il potere agglutinante non compare abitualmente che dopo la seconda iniezione, per diminuire o scomparire rapidamente a breve distanza dall'ultima iniezione. Anche secondo E. Reiss (22), il titolo agglutinante raggiungerebbe

(22) Münch. med. Woch., n. 38, 1915.

i suoi maggiori valori in media 2-10 giorni dopo l'ultima iniezione (tre inezioni) per poi più o meno rapidamente discendere Ugualmente Hagge e Korff-Petersen (l. c.) riferiscono che la curva delle agglutinine comincia d'ordinario a cedere già dopo otto giorni dall'ultima iniezione.

La tendenza alla rapida diminuzione o alla scomparsa del potere agglutinante, a più o meno lunga distanza dall'ultima vaccinazione è in complesso il fenomeno più costante che possa desumersi dalle osservazioni raccolte nella letteratura, per quanto soggetto a variazioni individuali non indifferenti. Non altrimenti del resto succede, come è notissimo, degli anticorpi (agglutinine e batteriolisine) contenute nel sangue dei convalescenti di tifo.

Fatta eccezione di alcune osservazioni di Peruzzi (23), che avrebbe trovato che dopo tre anni dalla avvenuta vaccinazione (vaccino Sclavo) persisteva nell'80 % dei suoi casi un valore agglutinante aggirantesi attorno all'1 :50, la maggior parte degli autori si accordano difatti nel riferire che a distanza di 2-3 mesi dall'ultima iniezione il potere agglutinante è caduto, nella maggioranza dei vaccinati, a valori inferiori a 1 :50 (Dakeyne (24), Orticoni (25), Herzog (26), Belfanti (27), Ziersch (28), Datta (29), Moreschi (30), ecc., ecc.).

Quanto agli effetti della vaccinazione anticolerica, null'altro è stabilito per intanto, attraverso le indagini sperimentali e le osservazioni nell'uomo, all'infuori di questo che il titolo agglutinante riesce d'ordinario inferiore a quello rilevabile nei vaccinati contro il tifo.

Nelle mie ricerche il titolo agglutinante fu sempre stabilito col classico metodo macroscopico, emulsionando una traccia di patina batterica fresca (dall'agar di 18 ore) in un cmc. diluizione di siero inattivato a vario titolo (da 1 :50 a 1 :2000).

I risultati che ho raccolto appaiono chiaramente dalle curve qui riferite.

---

(23) Lo Sperimentale, n. 3, 1915.

(24) cit. da Belfanti.

(25) cit. da Belfanti.

(26) cit. da Belfanti.

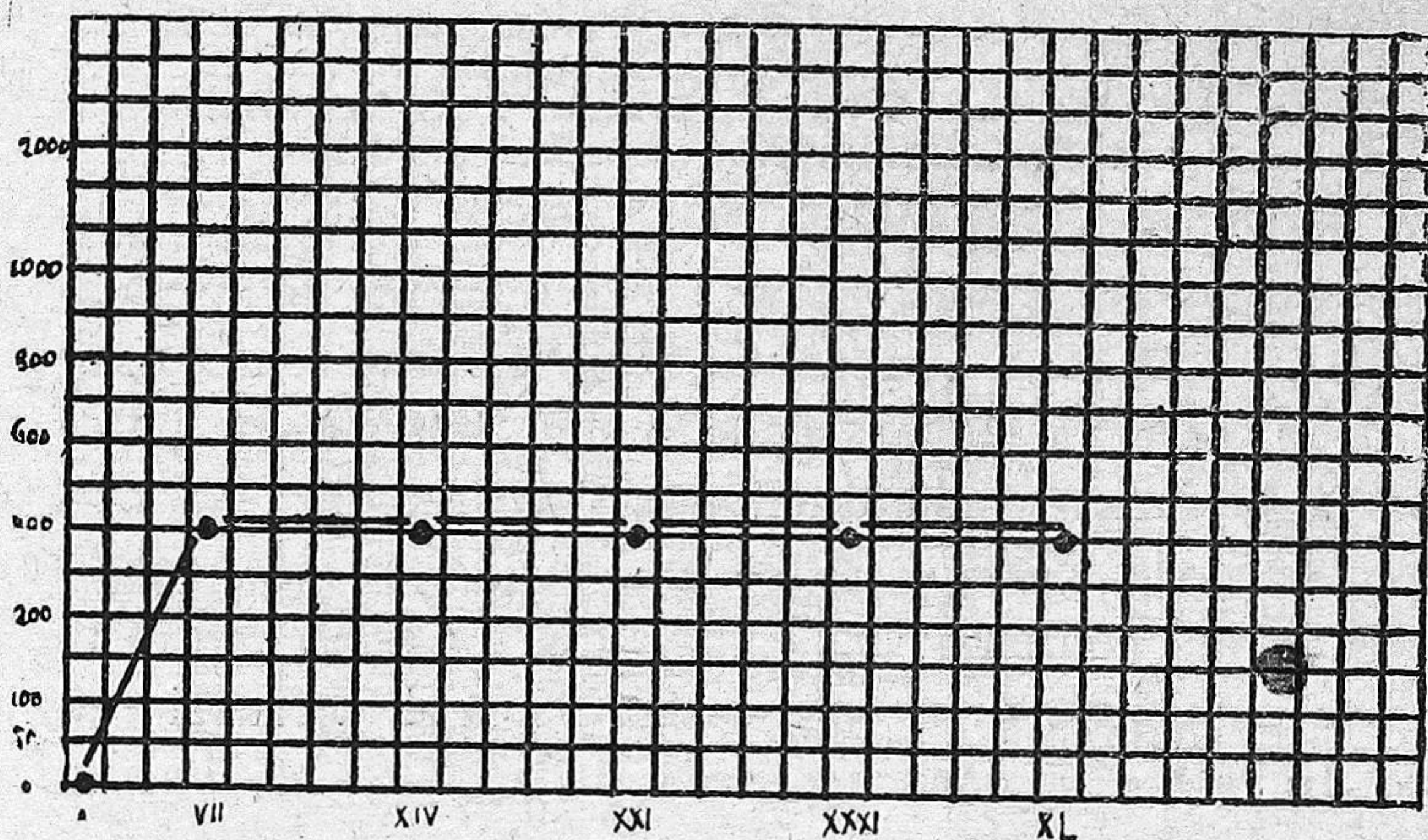
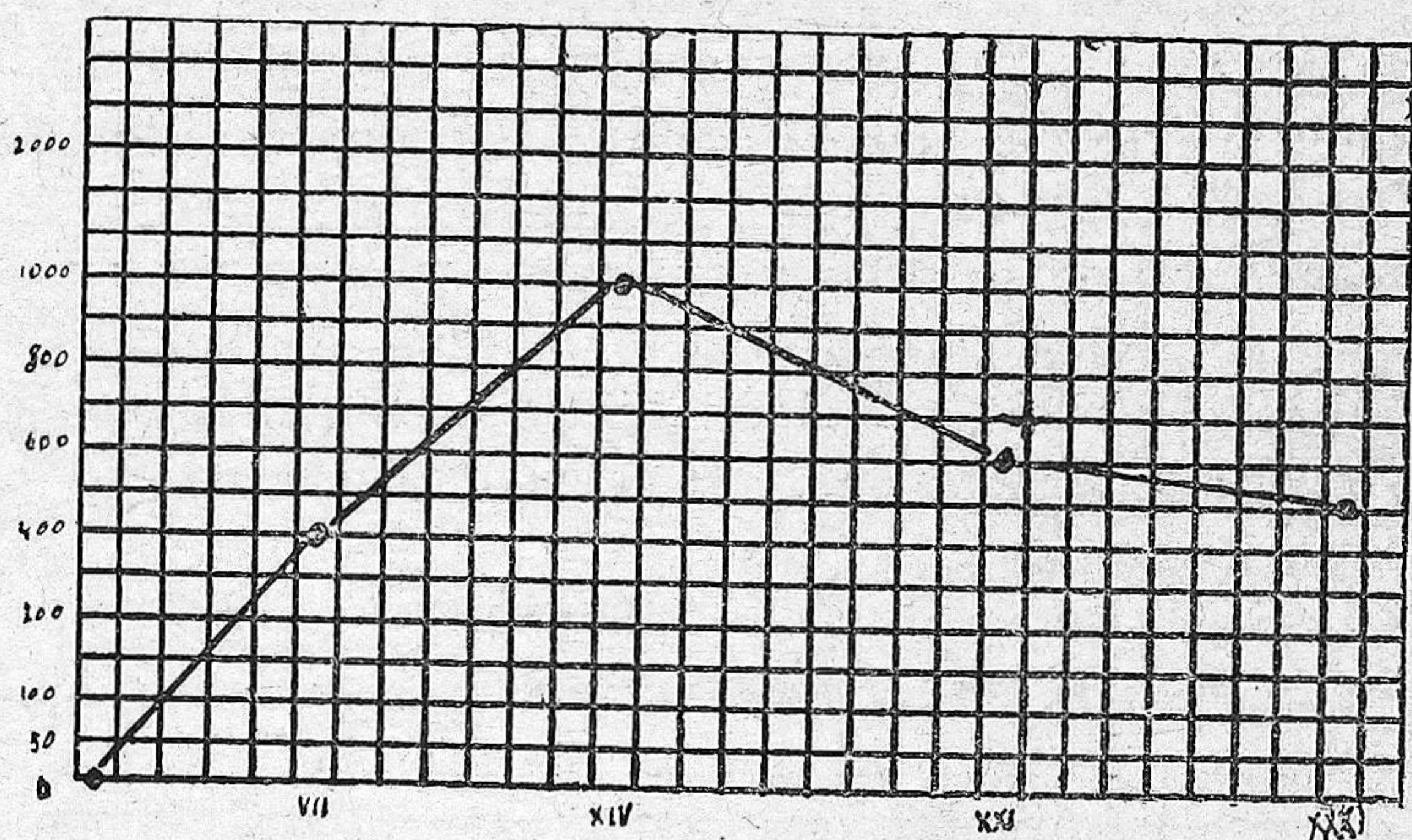
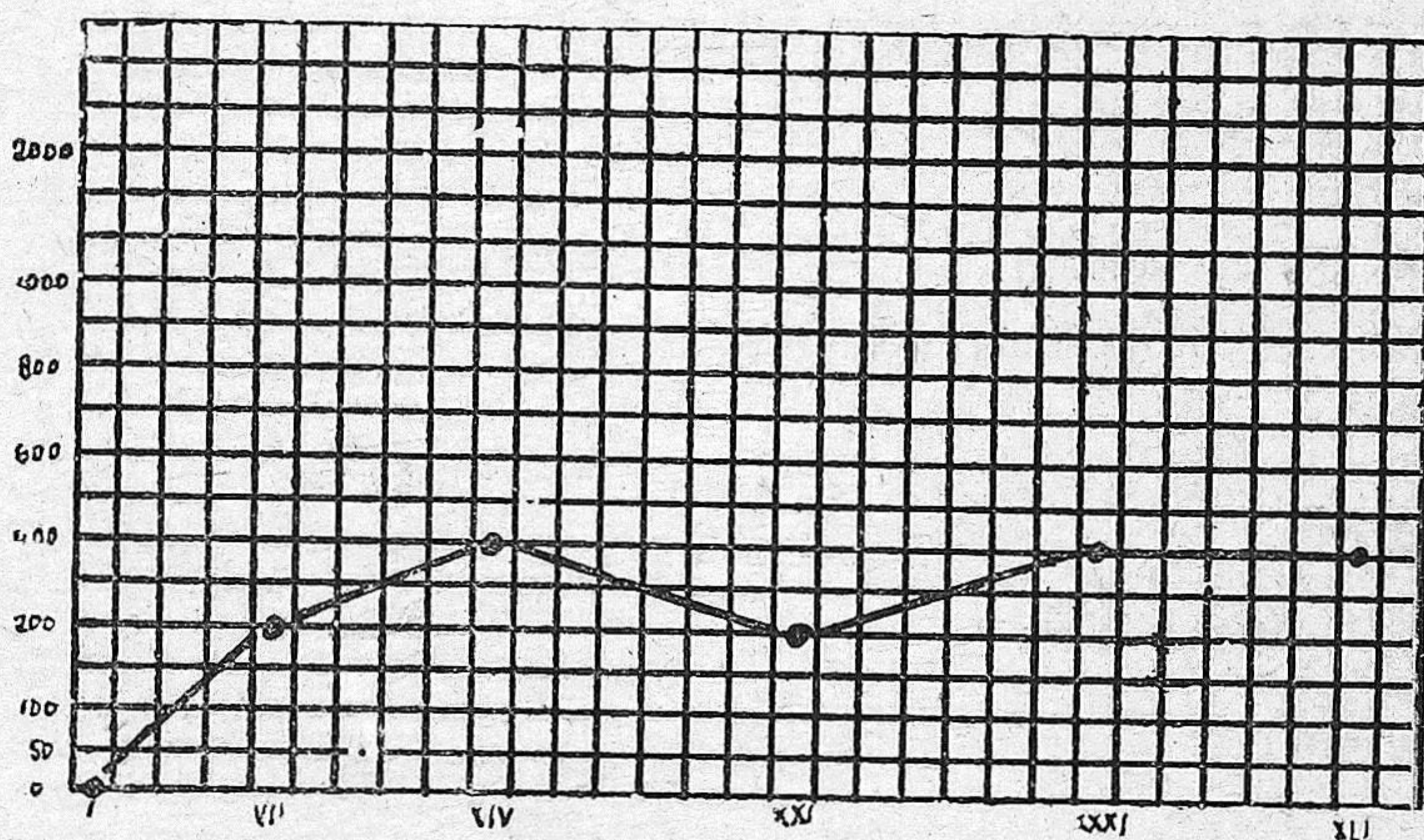
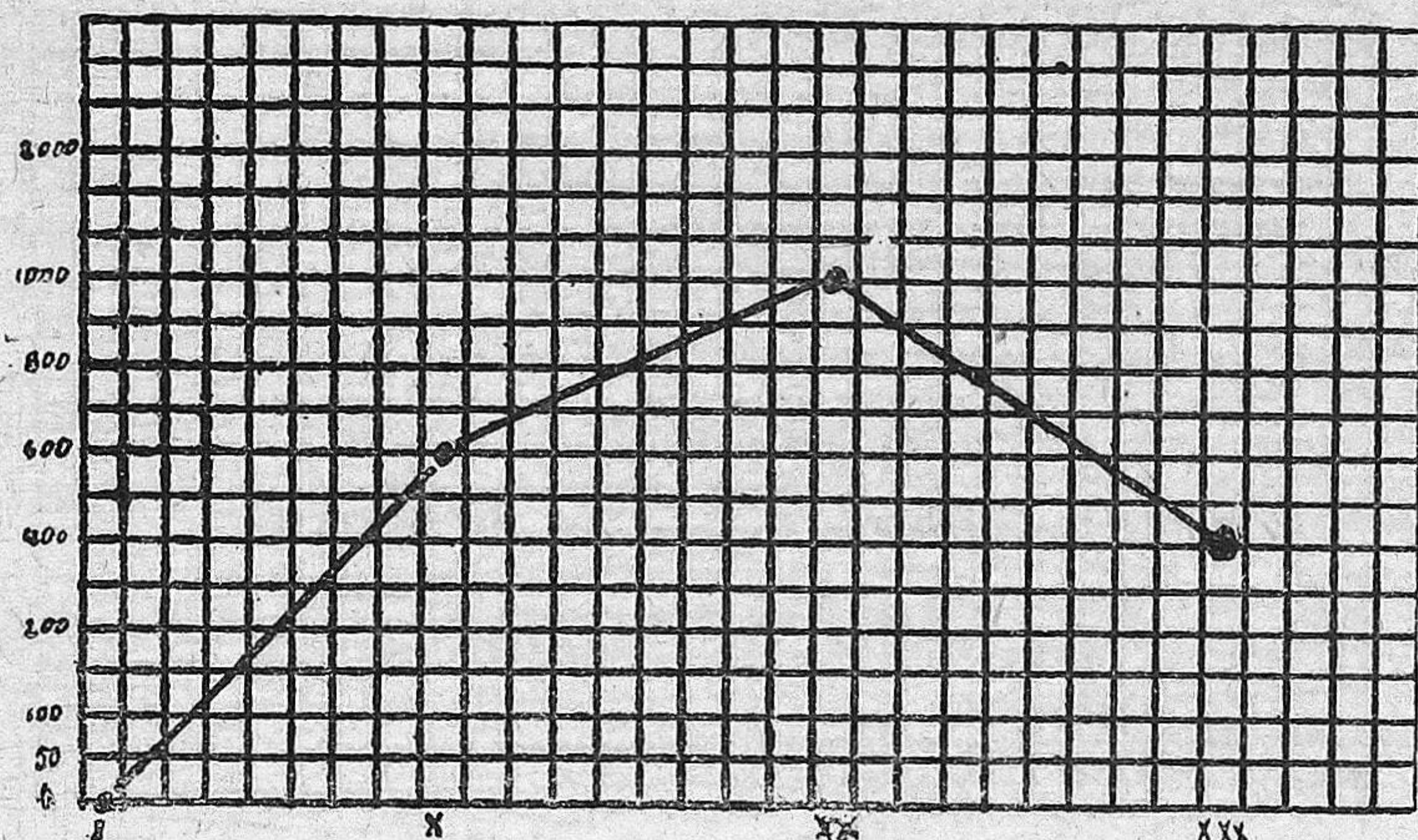
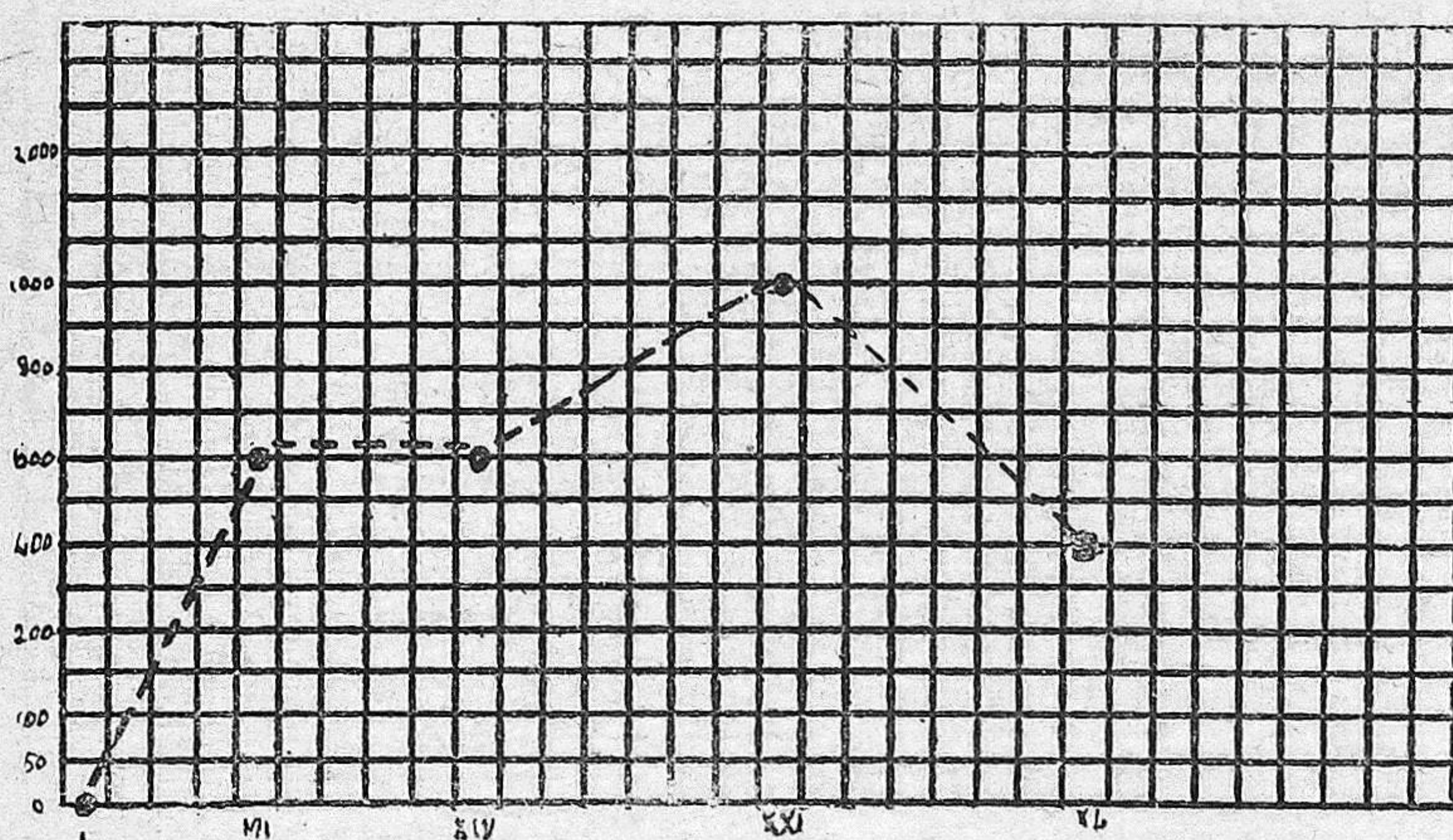
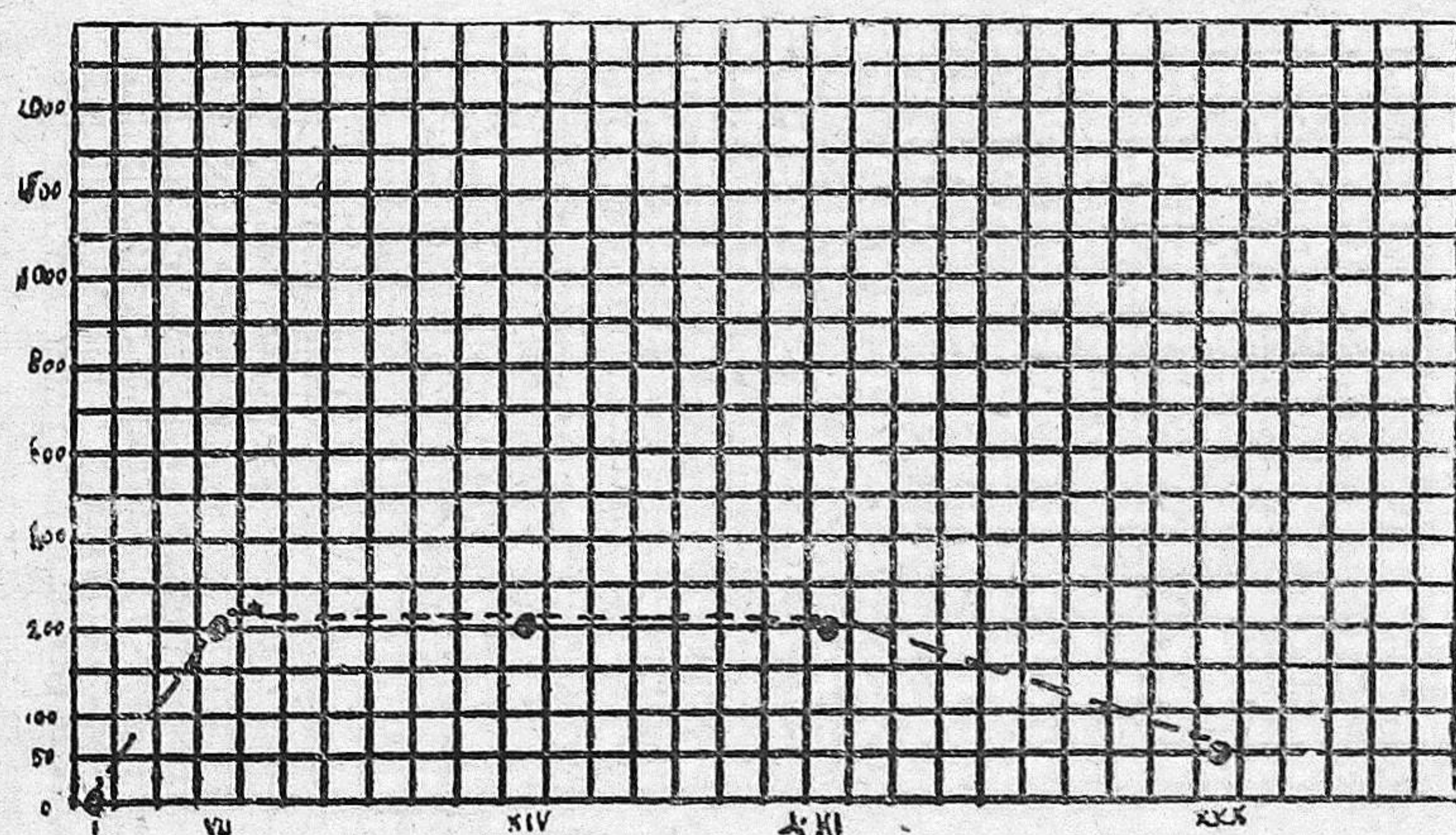
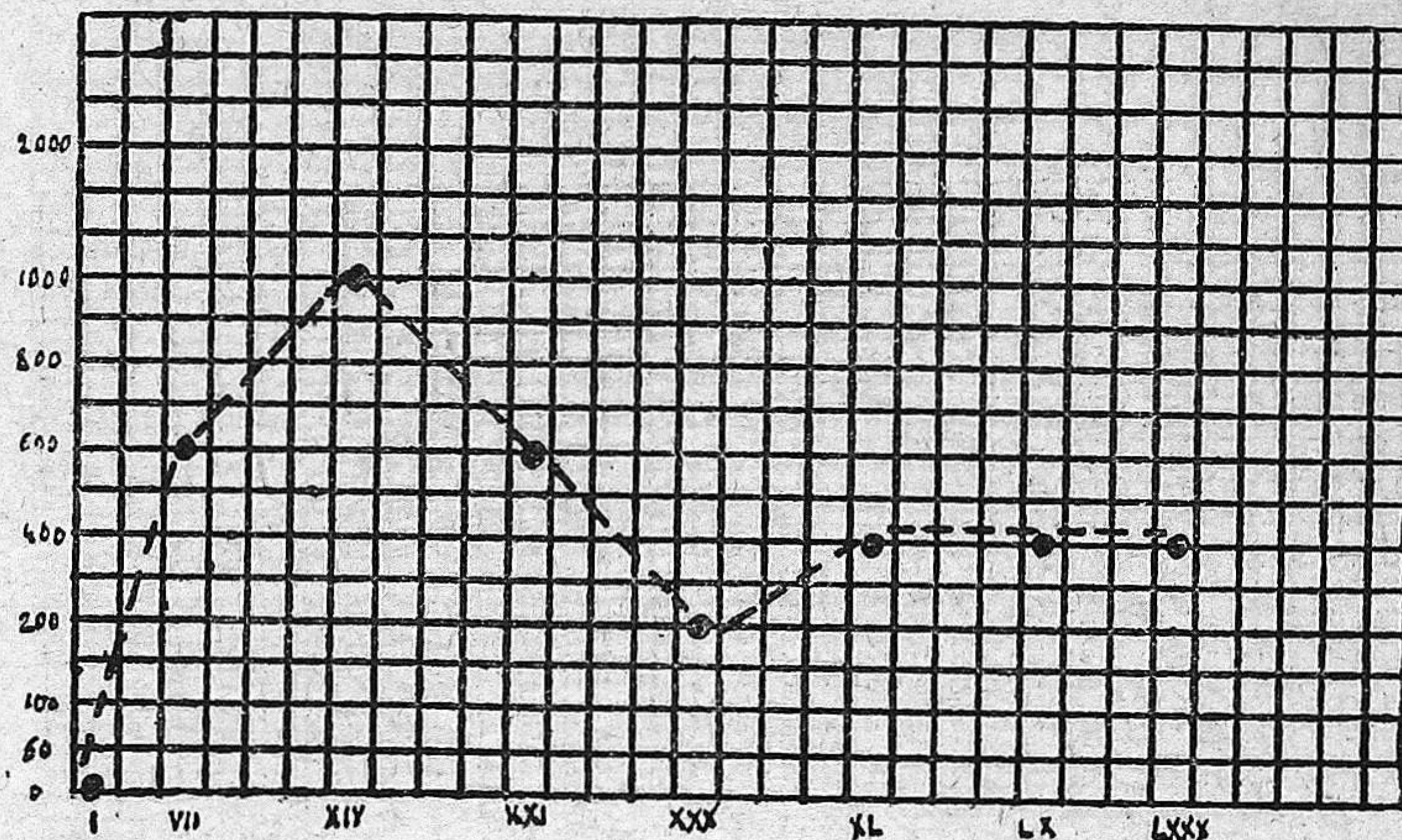
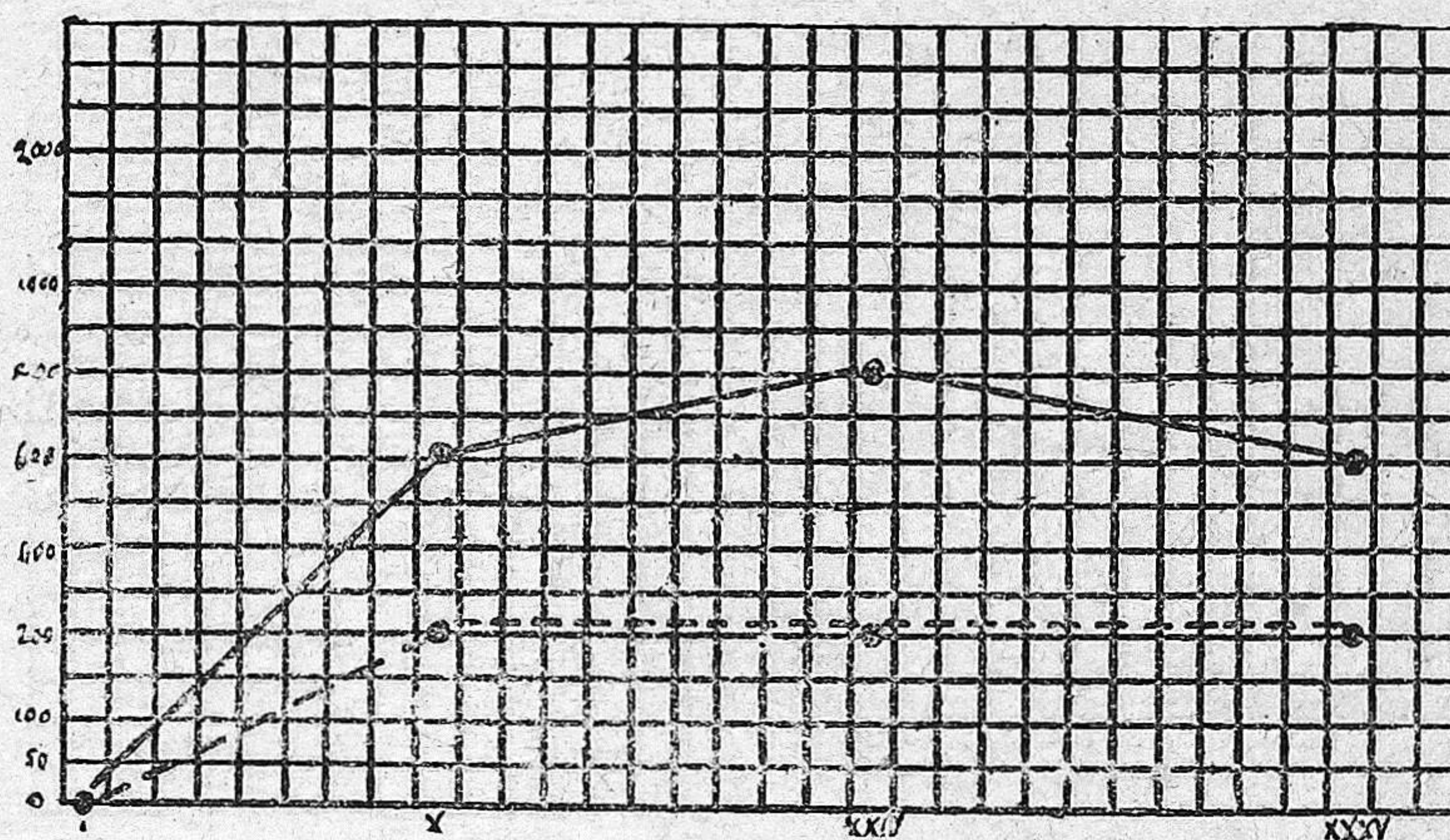
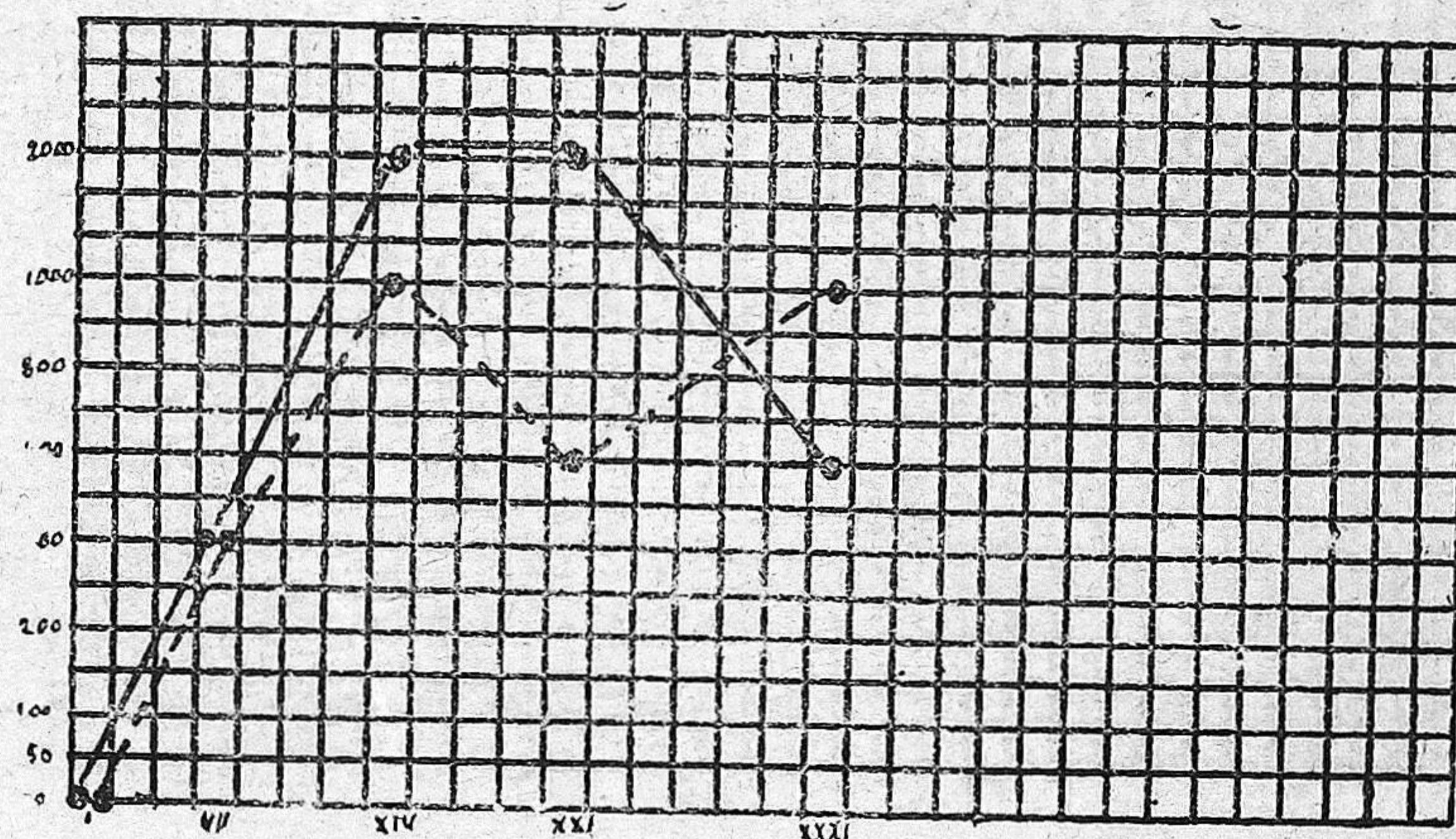
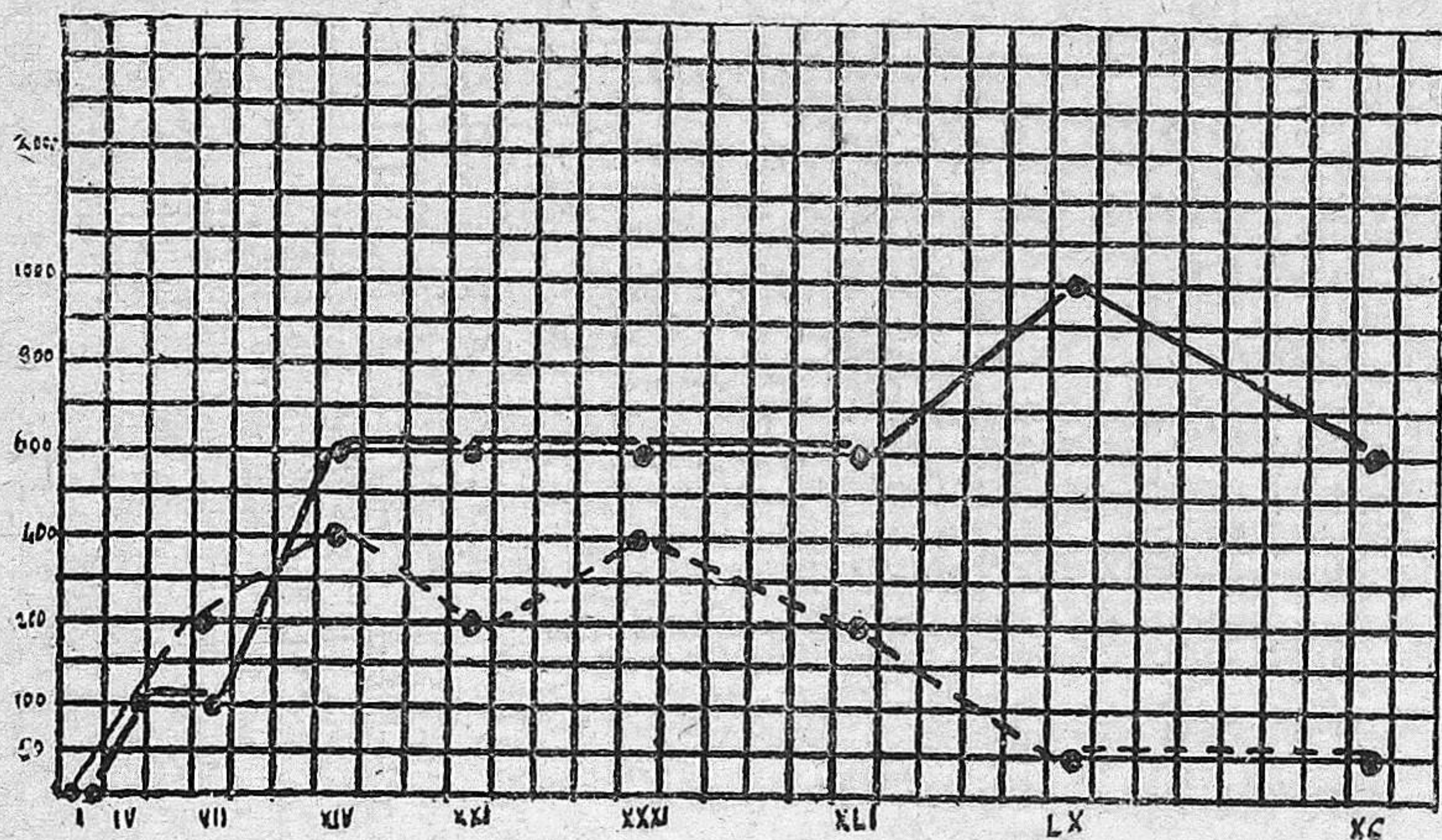
(27) L'Ospedale Maggiore, n. 9, 1915.

(28) loc. cit.

(29) Riforma Medica, n. 12, 1916.

(30) VIII Congresso della Soc. Ital. per il progresso delle Scienze, Roma, 1-6 Marzo 1916.

(31) + + + = agglutinazione completa
+ + = » quasi completa
+ = » parziale.

I. - P. Italia, anni 27: iniezione ondevenosa di 1/1000 di ansa normale di vaccino antitifico.

II. - P. Adamo, anni 39: iniezione endovenosa di 1/1000 di ansa normale di vaccino antitifico.

III. - T. Luisa, anni 16: iniezione endovenosa di 1/1000 di ansa normale di vaccino antitifico.

IV. - B. Prinetta, anni 17 : iniezione endovenosa di 1/1000 di ansa normale di vaccino antitifico.

V. - M. Violante, di anni 40 : iniezione endovenosa di 1/15 di ansa normale di vaccino anticolerico.

VI. - R. Artemio, di anni 19 : iniezione endovenosa di 1/15 di ansa normale di vaccino anticolerico.

VII. - S. Caterina, di anni 33: iniezione endovenosa di 1/15 di ansa normale di vaccino anticolerico.

VIII. - T. Giuseppe, di anni 28: iniezione endovenosa di 1/1000 di ansa normale di vaccino antitifico e di 1/15 di vaccino anticolerico.

IX. - G. Vittorio, di anni 33: iniezione endovenosa di 1/1000 di ansa normale di vaccino antitifico e di 1/15 di vaccino anticolerico.

X. - R. Ester, di anni 25: iniezione endovenosa di 1/1000 di ansa anormale di vaccino antitifico e di 1/10 di vaccino anticolerico.

Troppo scarsi ancora ed incompleti son questi risultati perchè sia lecito derivarne delle precise conclusioni sul ciclo assolto dagli anticorpi in seguito all'iniezione endovenosa dei vari vaccini. In attesa di completarli, noi ci limitiamo per intanto a rilevare che, attraverso le nostre ricerche, la produzione di agglutinine, sia di fronte al tifo, sia di fronte al colera, oltre ad essere generalmente più vivace, presenta, per quanto soggetta a variazioni individuali non indifferenti, un andamento più regolare che in seguito alle iniezioni sottocutanee; che, per quanto la presenza di questi anticorpi sia già nettamente rilevabile in circolo in VII e talora già in IV giornata, il massimo potere agglutinante coincide, d'ordinario, con la XIV o con la XXI giornata; che, raggiunto un massimo di concentrazione, le agglutinine vi si mantengono per un tempo assai variabile, per poi discendere con assai diversa prontezza, non senza che qualche volta la linea di discesa sia interrotta da un nuovo rialzo; che infine, in seguito alla vaccinazione mista e contemporanea, le curve delle agglutinine tifiche e coleriche seguono il loro ritmo abituale come in seguito alla vaccinazione separata.

Sulla durata del potere agglutinante a lunga distanza dalla vaccinazione, non abbiamo dati sufficienti per un giudizio fondato.

Noi potremmo citare qualche protocollo onde risulta una lunga persistenza del potere agglutinante, come il seguente, notevole per l'alto titolo conservato dalle agglutinine tifiche a più di un anno di intervallo dalla vaccinazione; ma, evidentemente, i dati singoli potrebbero non rappresentare che delle eccezioni.

R. Teresa, anni 19: iniezione endovenosa di 1/1000 di ansa normale, di vaccino antitifico il 10 febbraio 1915:

19 Febbraio 1915:

1 : 50 + + +
1 : 100 + + +
1 : 200 + + +
1 : 400 + + +
1 : 600 + + + (V. nota pag. prec.)

17 Marzo 1916:

1 : 50 + + +
1 : 100 + + +
1 : 200 + + +
1 : 400 + +
1 : 600 + +
1 : 1000 +
1 : 2000 0

Tuttavia, anche considerando il fenomeno nei limiti di tempo dei risultati raccolti nelle curve soprariportate, ci sembra lecito di ammettere che un non indifferente valore agglutinante sia spesso rilevabile nel siero dei vaccinati per un periodo più lungo di quel che non succede, siccome appare dalle ricerche utilizzabili della letteratura, nel comune processo di vaccinazione (antitifica) dopo 3 iniezioni sottocutanee.

Sicchè parrebbe che ad un *ictus immunisatorius* più vivace, quale segue indubbiamente alla iniezione endovenosa, corrisponda anche una più durevole produzione di anticorpi, ciò che può avere la sua importanza anche nei riguardi della questione oggidì assai dibattuta sull'utilizzabiltà della reazione di Widal per la diagnosi del tifo nei vaccinati.

Risulta inoltre da altre nostre osservazioni che nei vaccinati per via endovenosa l'iniezione sottocutanea di una dose ordinaria del corrispondente vaccino è capace di determinare una pronta e vivace riaccensione della curva degli anticorpi, ciò che nel campo della pratica delle vaccinazioni può tradursi nel precetto di vaccinare per la prima volta per via endovenosa e, ottenuto così un intenso ictus immunizzante, eseguire le eventuali rivaccinazioni per via sottocutanea (Micheli e Quarelli).

Queste le principali osservazioni che io ho potuto raccogliere seguendo da vicino il metodo delle vaccinazioni endovenose. Non è mio intento di trarne delle conclusioni sul valore di questo processo di vaccinazione, la cui efficacia non potrà risultare, in modo incontestabile, che dall'esperimento epidemiolo-

gico. Mi basta quindi di rilevare che, sulla guida dei fatti osservati, due ordini di constatazioni scaturiscono naturalmente, non senza interesse pratico e biologico.

Sul terreno della pratica, l'assoluta innocuità delle vaccinazioni endovenose, sempre che esse siano eseguite con una dose di vaccino preventivamente titolata e corrispondente o di poco superiore alla dose minima necessaria per la produzione di un optimum di anticorpi. Eliminate le moleste reazioni locali delle vaccinazioni sottocutanee, le perturbazioni cui l'organismo va incontro per effetto del processo immunizzante e che dal processo immunizzante sono indissolubili, sono difatti relativamente lievi, ben tollerate e rapidamente transitorie, senza strascichi di sorta. Non esistono quindi altre controindicazioni all'impiego della via endovenosa che quelle abitualmente stabilite anche per il comune processo di vaccinazione sottocutanea: convalescenti di affezioni febbrili, tubercolosi polmonare o di altri organi, lesioni renali.

E dal lato biologico la conferma del fatto che le iniezioni endovenose di piccole dosi di vaccino importano, in confronto delle sottocutanee, un ictus immunizzante più vivace ed anche, a quanto pare, una più durevole produzione di anticorpi (agglutinine), onde la legittima presunzione che ad esse spetti anche un più efficace potere protettivo.

Ma, a parte questo, e sempre sul terreno biologico, è senza dubbio meritevole d'attenzione un altro fatto, già da varie parti accennato a proposito delle vaccinazioni sottocutanee, ma che con assai maggior nettezza e costanza trae rilievo dal metodo endovenoso, che cioè il complesso delle manifestazioni presentate dall'organismo in seguito alla introduzione nelle vene di una piccolissima dose di bacilli morti del tifo o del colera offre molte analogie con quelle proprie delle rispettive infezioni naturali.

Ho già ricordato le turbe gastro-enteriche che possono seguire alla vaccinazione anticolerica; nella vaccinazione antitifica la cosa presenta ancora, come abbiamo visto nelle pagine precedenti, una maggiore evidenza. Così è della reazione febbrile, che colla sua ascesa scalare e colla sua graduale risoluzione non di rado riproduce in miniatura la caratteristica curva termica del tifo; così è delle manifestazioni generali, del tumor splenico e così, pur prescindendo dalle modificazioni biologiche del plasma, delle manifestazioni leucocitarie, che riproducono a periodi ravvicinati le diverse fasi della reazione leucocitaria della febbre tifoide. Il che, mentre da un lato riafferma l'importanza dei corpi batterici nel determinismo del quadro morboso di alcune infezioni e parla piuttosto in favore del concetto delle endotossine (Pfeiffer) anzichè di quello dei prodotti aspecifici di scissione delle proteine batteriche (Friedberger), dall'altro lato rende ra-

gionevole la presunzione che anche alle vaccinazioni preventive possa seguire uno stato di immunità non fondamentalmente dissimile, per quanto diverso per quantità e durata, da quello che quasi costantemente tien dietro alla infezione naturale.

Al prof. Micheli, che di tanto aiuto mi è stato largo in questo lavoro, i miei vivi ringraziamenti.

Siena, giugno 1916.